Aus der Carcinomabteilung des Kgl. Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.

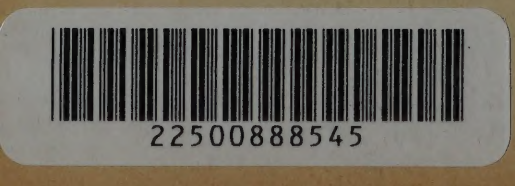
Beobachtungen über maligne Mäusetumoren.

Von

Prof. Dr. **P. Ehrlich** und Dr. **H. Apolant.**

(Sonderabdruck aus der Berliner klin. Wochenschr., 1905, No. 28.)

WELLCOME INSTITUTE
LIBRARY
Coll. wellMOmec
Call No. P
5667
1867



Sonderabdruck aus der Berliner klin. Wochenschr., 1905, No. 28.

Aus der Carcinomabteilung des Kgl. Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.

Beobachtungen über maligne Mäusetumoren.

Von

Prof. Dr. **P. Ehrlich** und Dr. **H. Apolant**.

I. Allgemeine Erfahrungen über Mäusecarcinome.

Für die experimentelle Erforschung des Carcinoms sind die an kleineren Tieren, besonders an Mäusen und Ratten angestellten Versuche von ausschlaggebender Bedeutung gewesen. Den ersten klassischen Krebsübertragungen Hanau's bei Ratten schlossen sich die sehr erfolgreichen Mäuseimpfungen Morau's an. Nach einer längeren Pause waren es insbesondere zwei Forscher, die gleichzeitig und unabhängig voneinander die Frage nach der Ueberimpfbarkeit der bösartigen Tumoren von neuem in Fluss brachten, C. J. Jensen in seinen bekannten ausgezeichneten Arbeiten über die Mäusecarcinome und Leo Löb in Chicago, der speziell der Uebertragbarkeit von Mischgeschwülsten bei Ratten ausgedehnte Untersuchungen widmete. In neuester Zeit sind Borrel in Paris, wir selbst und L. Michaelis am Berliner Krebsinstitut in gleicher Richtung tätig gewesen. Immer mehr bricht sich die Anschauung Bahn, dass es sich bei den Mäusetumoren um epitheliale Neubildungen handelt, die zwar in manchen Einzelheiten von den menschlichen Carcinomen abweichen, immerhin aber ein genügendes Analogon zu denselben bilden, um ein experimentelles Arbeiten an ihnen zu rechtfertigen.

Unsere eigenen Untersuchungen über die Mäusecarcinome sind seit über zwei Jahren im Gange.[1]) Wir haben das Haupt-

1) Cfr. Apolant, Deutsche med. Wochenschr., 1904, No. 13 u. 31 sowie Tafeln auf der Weltausstellung in St. Louis.

gewicht darauf gelegt, 1. ein möglichst grosses und vielfältiges Material von spontan vorkommenden Mäusetumoren zu gewinnen und 2. Erfahrungen über die Schicksale der transplantierten Geschwülste zu sammeln. Indem wir bezüglich der Einzelheiten auf eine spätere Abhandlung verweisen, wollen wir hier nur erwähnen, dass sich unsere Untersuchungen auf die primären Tumoren von 154 weissen und 10 grauen, grösstenteils aus Züchtereien stammenden Mäusen erstrecken. Ausnahmslos handelt es sich um alte Weibchen[1]), die meist mit einem, nicht selten aber auch mit 2, 3 und mehr Primärtumoren behaftet waren. Die bevorzugten Sitze derselben bilden die Gegend der Axilla, der vorderen und seitlichen Brust, Bauch, sowie die Nachbarschaft der Vagina. Rücken und Nacken waren nur ganz ausnahmsweise befallen. Alle Tumoren waren epithelialer Natur und liessen sich, worauf später ausführlich eingegangen werden soll, in allen Fällen mit Bestimmtheit aus der Brustdrüse ableiten.[2])

In ihrem histologischen Bau stellen sie entweder reine Adenome dar oder Adenocarcinome von alveolärem oder papillärem Typus und mit verschieden ausgeprägter Neigung zur Cystenbildung. Eine sehr detaillierte Differenzierung der verschiedenen Formen, die uns berechtigte, von scharf umschriebenen Einzeltypen zu sprechen, halten wir für inopportun und undurchführ-

---

1) Auch die im Pariser Institut beobachteten 30 Spontantumoren betrafen ausschliesslich Weibchen, so dass also aus beiden Instituten zusammen gegen 200 ausnahmslos weibliche Tumormäuse beobachtet wurden. Wir selbst haben unsere diesbezüglichen Erfahrungen so lange zurückbehalten, um über ein möglichst grosses Material zu verfügen. Denn da die Mäuse fast ausschliesslich aus Zuchtbetrieben stammen und in diesen auf 10—15—20 Weibchen erst ein Bock kommt, so ist über die Bedeutung des Geschlechts für die Tumorbildung nur aus sehr grossen Zahlen ein Schluss zu ziehen.

2) Dieser Ausgangspunkt der Geschwülste steht durchaus in Uebereinstimmung mit ihrer Lokalisation. Der nur ganz vereinzelt beobachtete Sitz auf Rücken und Nacken ist höchst wahrscheinlich mit aberrierenden Keimen der schon normal über eine beträchtliche Körperfläche sich erstreckenden Mammae zu erklären. Auch sonst sind in vereinzelten Fällen von verschiedenen Autoren, z. B. Michaelis, die Mammae als Ausgangspunkt angesprochen worgen; insbesondere hat Haaland (Annales de l'Institut Pasteur, Mars 1905) diese Hypothese wegen des Vorkommens bei Weibchen und der Lokalisation als wahrscheinlich hingestellt, ohne jedoch einen zwingenden histologischen Beweis zu bringen. Daneben hält er es jedoch für möglich, dass auch die Hautdrüsen als Ausgangspunkt namentlich der in der Nähe der Vulva gelegenen Tumoren in Betracht kommen. Gerade diese letzteren konnten wir jedoch ebenfalls auf die Mamma zurückführen.

bar, da 1. in demselben Tumor evident adenomatöse und carcinomatöse Partieen nebst zahlreichen Uebergängen angetroffen werden, 2. verschiedene Tumoren desselben Tieres ganz differente Typen repräsentieren können und 3. bei durch viele Generationen hindurch fortgesetzten Ueberimpfungen die ursprünglichen Structurdifferenzen sich bis zu einem gewissen Grade ausgleichen. Wesentlich maassgebend für die histologische Structur ist in erster Linie die Wachstumsenergie der Zelle und weiterhin die hierzu in gewisser Korrelation stehende Neigung zur Degeneration und Nekrose.

Der von uns erbrachte Nachweis, dass die Mamma ausnahmslos den Ausgangspunkt der Geschwülste bildet, lässt eine doppelte Erklärung zu. Erstens könnte daran gedacht werden, dass bei dem Zuchtbetrieb, zu dem, wie bekannt, nur ausgesuchte Tiere von seltener Fertilität verwandt werden, durch den fast kontinuierlichen Zustand des Tragens und Säugens eine kolossale Inanspruchnahme der Brustdrüsen bedingt wird, die den Boden für die Geschwulstbildung abgibt. Andererseits liegt es für den Anhänger der infektiösen Theorie nahe, anzunehmen, dass gerade durch die Mamma die Infektion in den Zuchtbetrieben vermittelt werden könnte, da die in grossen Haufen zusammenliegenden Säuglinge in demselben Käfig kommunistisch, ohne spezifische Scheidung der betreffenden Mutterammen von zahlreichen säugenden Tieren genährt werden. Da bei beginnendem Carcinom, wie wir uns überzeugt haben, die Brustdrüse noch lactationsfähig bleibt, so ist unter der Voraussetzung eines spezifischen Keims die Möglichkeit gegeben, dass ein Junges, besonders durch Evertierung der Mammilla das Virus von einem Tier auf die Brustwarze eines anderen überträgt. Versuche, die wir in dieser Richtung durch Zuchtbetrieb mit geeigneten Carcinomammentieren angestellt haben, ergaben bisher kein Resultat, sollen jedoch noch weiter fortgesetzt werden[1]).

Im Laufe von $2^1/_2$ Jahren wurden 71 Primärtumoren weiter verimpft und zwar nach dem von Borrel im Pariser Institut angewandten und dem einen von uns demonstrierten Verfahren der Injektion zerstampften Carcinombreies. Von diesen 71 Tumoren haben sich aber nur 10 als überimpfbar erwiesen, nämlich No. 4, 5, 7, 11, 16, 18, 42, 54, 67 und 71. Alter und Geschlecht der Impflinge sind für den Erfolg der Uebertragung nicht von aus-

1) Haaland l. c. berichtet über ähnliche sehr interessante Versuche, die er im Pariser Institut unter Borrel's Leitung vorgenommen hat.

schlaggebender Bedeutung. Insbesondere scheinen alte weibliche Mäuse keineswegs besonders geeignet zu sein, ein Punkt, der deswegen von Bedeutung ist, als er klar zeigt, dass die Bedingungen für die primäre Entstehung der Carcinomzelle toto coelo verschieden sind von denjenigen, die für das Haften und die Vermehrung der fertigen Carcinomzellen im fremden Tierkörper maassgebend sind.

Die fortgesetzten Transplantationen ergaben zunächst zwei wichtige Resultate: 1. dass die originäre Wachstumsenergie der verschiedenen Stämme ausserordentlich variiert, und 2. dass im Gegensatz zu den Erfahrungen von Jensen sowohl wie von Borrel durch successive Impfungen bei der Mehrzahl der Tumoren eine deutliche, gewöhnlich maximale Virulenzsteigerung zu verzeichnen ist. Letztere dokumentiert sich in einer erheblichen Zunahme der positiven Impferfolge bis auf 80 bis 100pCt. sowie in einer Steigerung des Wachtumstempos. Die in dieser Hinsicht günstigsten Verhältnisse bietet Stamm 7, wohl der virulenteste aller bisher im Experiment oder am Krankenbett beobachteten Carcinome, bei dem schon seit längerer Zeit die Zahl der angehenden Impfungen zwischen 80 und 100pCt. schwanken. Die Wachstumsenergie ist hier eine so bedeutende, dass die Tumoren bereits innerhalb 8 Tagen ein Gewicht von 2 Gramm, in 2 Wochen von über 3 Gramm und in 3 Wochen von 5 Gramm erreichen. Geschwülste, deren Gewicht in weniger als 2 Monaten dem der Maus nach Ausschälung des Tumors mindestens gleichkommt, gehören keineswegs zu den Seltenheiten. Im Gegensatz hierzu zeigen andere Tumoren eine so geringe Wachstumstendenz, dass bei den ersten Ueberimpfungen Wochen und Monate vergehen bis mit Sicherheit ein Knoten zu konstatieren ist, der sich dann ähnlich wie schon Morau beschrieben hat, in Monaten langsam weiter entwickelt. Aber auch hier scheint im Laufe der Zeit eine wenn auch nur geringe Virulenzsteigerung einzutreten. Die beifolgende Tabelle gibt eine Uebersicht über die hinsichtlich der Wachstumsgeschwindigkeit bei den verschiedenen Stämmen bestehenden Differenzen.

Die Verschiedenheit der Wachstumsenergie findet ihren histologischen Ausdruck darin, dass die schnell wuchernden Tumoren in dicken, soliden Strängen und Nestern wachsen unter Bildung kolossal ausgebreiteter Degenerationen, während

Stamm	Beginn der Impfungen	Erreichte Generation	Zeitdauer der bisherigen Beobachtung
4	12. III. 03	6.	$27^1/_2$ Monate
5	17. III. 03	37.	$27^1/_2$ „
7	27. III. 03	60.	27 „
11	25. IV. 03	42.	26 „
16	12. VI. 03	42.	$24^1/_2$ „
18	20. VI. 03	40.	24 „
42	22. I. 04	15.	17 „
54	23. IV. 04	12.	14 „
67	16. IX. 04	4.	9 „
71	28. XII. 04	1.	6 „

bei den langsam wachsenden Geschwülsten eine Neigung zum alveolären Wachstum resp. bei Erweiterung der Lumina zum mehr papillären Typus vorhanden ist, und die Zellen erheblich weniger zur Degeneration neigen.

Auf einen wichtigen Punkt möchten wir an dieser Stelle besonders hinweisen, nämlich auf das schrankenlose Zellwachstum. Es ist nicht uninteressant, sich durch rechnerische Ueberlegung auf Grund unserer Impferfahrung einen Begriff von der potenziell in einem Mäusetumor vorhandenen Wachstumsenergie zu machen.

Wie erwähnt, ist seit etwas über 2 Jahren der Stamm 7 bis zur 60. Generation gezüchtet worden, wobei berücksichtigt werden muss, dass in den ersten $1^1/_2$ Jahren bei weitem nicht so häufig überimpft wurde wie später. Bei dem jetzigen Impftempo ist es leicht, innerhalb eines Jahres über 50 Generationen zu erhalten. Da die Ausbeute durchschnittlich zwischen 80 und 100 pCt. schwankt, so kann, wenn jeder Tumor, wie dies bei uns geschieht, auf 12—15 Mäuse verimpft wird, mit Sicherheit darauf gerechnet werden, dass sich innerhalb einer Woche aus einem Tumor 10 gleich grosse gebildet haben. Aus jedem dieser 10 Tumoren könnten nun in 8 Tagen wieder 10 neue erzeugt werden, so dass, wenn alle Impfungen tatsächlich zur Ausführung kämen, in der zweiten Generation 100, in der dritten 1000, in der vierten 10000 usw. Einzeltumoren erzielt werden würden. Die Gesamtmasse der auf diese Weise bis zur 60. Generation fortgezüchteten Geschwülste beträgt 10^{60} ccm, wenn wir das Gewicht des Einzeltumors nur auf 1 ccm = 1 g ansetzen. Es ist ganz unmöglich, sich von der Grösse dieser

Masse eine Vorstellung zu bilden. Sie entspricht einem Kubus von 1000 Billionen Kilometer Kantenlänge, eine Strecke, die das Licht in 105 Jahren zurücklegt[1]). In Kugelform hätte die Masse einen Durchmesser, der den Sonnendurchmesser 890 Millionenmal und ein Volumen, das das der Sonne mindestens 7×10^{26} mal übertreffen würde. Wenn es auch aus technischen Gründen unmöglich ist, eine solche Gesamtausbeute selbst nur bis zu einer kleinen z. B. fünften Potenz praktisch zu erzielen, so ist doch die Berechnung durchaus zulässig. Sind doch die von uns bis zur 60ten Generation durchgeführten Impfungen nichts anderes als Stichproben eines derartigen Vollversuches. Die Berechnung bezweckt eben nur, die ungeheure Wachstumsenergie dieser Tumoren zahlenmässig festzulegen und dadurch dem Verständnis näher zu bringen. Für uns liegt in dieser schrankenlosen, Wucherungstendenz ganz wesentlich der distinktive Charakter der Bösartigkeit.

II. Entstehung eines Sarcoms auf dem Boden eines Carcinoms.

Unter unseren oben erwähnten Stämmen befindet sich nun einer, No. 16, bei dem wir Gelegenheit hatten, eine sehr interessante Beobachtung zu machen, auf die wir etwas ausführlicher eingehen müssen.

Der Stamm leitet sich von einer weissen, in hochträchtigem Zustand befindlichen Maus ab, die an der linken Seite des Halses einen etwa kirschkerngrossen Tumor aufwies. Die eine Hälfte der Geschwulst wurde am 12. Juni 1903 verimpft, während die andere Hälfte zur histologischen Untersuchung kam. Diese ergab folgenden Befund: Die Geschwulst besteht aus epithelialen Zellnestern und einem verschieden stark ausgebildeten bindegewebigen Gerüst. An einigen Stellen erkennt man noch deutlich die ursprüngliche Drüsenstructur, indem eine einschichtige Lage von Epithelzellen einen kleinen runden, mit Sekretmasse erfüllten Hohlraum einschliesst. Meist jedoch sind die Epithelien unter Auftreten zahlreicher Mitosen in lebhafter Proliferation begriffen, die teilweise zur Bildung solider Zellnester geführt hat. Haben die letzteren eine bestimmte Grösse erreicht, so kommt es zu centralem Verfall, der jedoch nirgends einen sehr erheblichen Umfang angenommen hat. Eine Besonderheit des

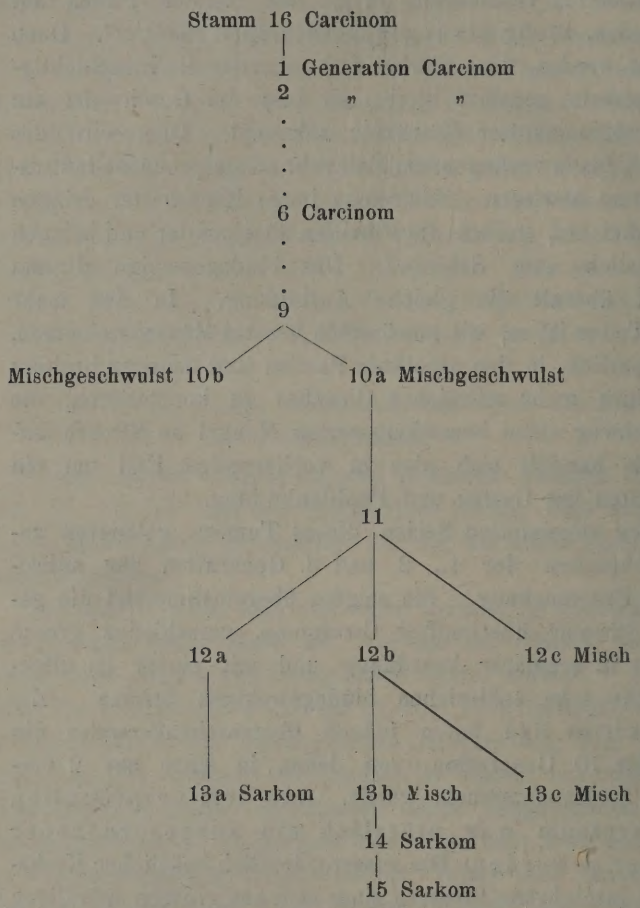
1) In einer Sekunde durchläuft das Licht 300000 Kilometer.

Tumors besteht darin, dass die Drüsenlumina eine ausgesprochene Neigung zu cystischer Erweiterung zeigen. Nur in relativ geringem Umfang werden jedoch hierdurch grössere, mit entsprechenden Sekretmassen gefüllte Cysten gebildet, das Lumen wird vielmehr durch teils zarte papilläre, teils dicke kolbige Sprossen erheblich verkleinert, ja in den meisten Fällen auf einen schmalen, häufig etwas gewundenen Spalt reduziert. Doch muss betont werden, dass hierbei fast nirgends die Einschichtigkeit des Epithels gewahrt bleibt, so dass der Geschwulst ein durchaus carcinomatöser Charakter zukommt. Dies wird des weiter durch das in vorliegendem Fall sehr ausgesprochene infiltrative Wachstum bewiesen. Zahlreiche junge Krebsnester dringen in den Muskel ein, treiben die Fibrillen auseinander und bringen sie schliesslich zum Schwund. Das bindegewebige Stroma zeigt nicht überall die gleiche Ausbildung. In den mehr papillären Teilen ist es, wie gewöhnlich bei den Mäusecarcinomen, nur sehr spärlich, in den areolären Partien sind dagegen breitere Strassen eines mehr zellreichen Gewebes zu konstatieren, die jedoch durchweg einen bemerkenswerten Mangel an Mitosen aufweisen. Es handelt sich also in vorliegendem Fall um ein Adenocarcinom mit Cysten und Papillenbildung.

Von den abgeimpften Serien dieses Tumors gelangten zunächst Stichproben der 1., 2. und 6. Generation zur mikroskopischen Untersuchung. Sie zeigten übereinstimmend die gewöhnliche Structur überimpfter Carcinome, verschieden grosse Zellennester in areolärer Anordnung und mit einem im allgemeinen nicht sehr zahlreichen bindegewebigen Stroma. Ein gänzlich anderes Bild boten jedoch überraschenderweise die Tumoren der 10. Generation, von denen je einer aus 2 verschiedenen Serien untersucht wurde. Aus dem ursprünglich reinen Carcinom war plötzlich ein ausgesprochener Mischtumor geworden. Die ausserordentlich spärlichen Krebsnester sind durch breite Strassen eines sich aus grossen spindligen Zellen zusammensetzenden Gewebes getrennt, in denen ein ganz ungewöhnlicher Reichtum an Mitosen zu konstatieren ist. An manchen Stellen sind die Krebsnester vollkommen geschwunden, so dass der Tumor ausschliesslich aus dicken, einander durchflechtenden Spindelzellzügen besteht. In den weiteren Generationen schwindet der carcinomatöse Geschwulstanteil immer mehr, so dass bereits in einem Tumor der 13. und dann konstant von der 14. Generation ab keine Spur von Carcinom mehr

zu entdecken war. Aus der geschilderten Structur geht hervor, dass sich allmählich unter Verdrängung des Carcinoms ein typisches Spindelzellensarkom entwickelt hatte[1]).

Die beifolgende Skizze gibt eine Uebersicht über die allmähliche Ausbildung des Sarkoms.



Die mit a, b, c bezeichneten Generationen stammen von verschiedenen Mäusen der vorhergehenden Serie.

Es ist nachträglich nicht mehr möglich, mit Bestimmtheit anzugeben, in welcher Generation die Umwandlung begonnen

1) Die Präparate haben einer Reihe Sachverständiger vorgelegen, so vor allem dem der Wissenschaft so vorzeitig entrissenen Carl Weigert, ferner den Herren Aschoff, Albrecht, Leopold Landau, Theodor Landau und L. Pick. Alle Herren haben sich übereinstimmend in vollem Umfange unserer Auffassung angeschlossen.

hat. Sicher ist sie bereits in der 9. Generation vorhanden gewesen, da 2 verschiedene von dieser abgeimpfte Serien sie aufweisen. Als reines Sarkom ist die Geschwulst bisher in 26 Generationen weiter gezüchtet worden, ohne dass sich in ihrem Charakter das geringste geändert hätte. Dabei ist die Ausbeute eine ausgezeichnete, da wir in den letzten Serien konstant über 90 pCt. erfolgreiche Impfungen erzielten. Durch gleichzeitige Impfung von Sarkom und Carcinom kommen richtige Mischgeschwülste zustande, die sich jedoch genau wie bei der spontanen Entwickelung des Sarkoms nur begrenzte Zeit als solche erhalten, da schon nach 2—3 Generationen der Carcinombestandteil von dem sich als stärker erweisenden Sarkom überwuchert wird. Wir sind mithin jederzeit imstande, auf rein experimentellem Wege Mischgeschwülste von genau derselben Struktur zu erzeugen, wie sie bei spontaner Entwickelung beobachtet worden sind. Ein ähnliches einseitiges Ueberwuchern der Abkömmlinge nur eines Keimblattes ist auch an menschlichen Teratomen wiederholt beobachtet worden. So bemerkt Pick (Das Epithelioma chorioectodermale, Verh. d. Berliner med. Gesellsch. 1904): „Neben diesen Bidermomen aber gibt es weiter „Mischgeschwülste“, in denen nur ein Keimblatt, ja nur eine bestimmte Gewebsart eines solchen in eine so lebhafte Wucherung geräht, dass alle anderen Bestandteile des Teratoms überwuchert, erstickt werden. Der kongenitale Keim hat sich einseitig entwickelt, das Teratom ist auf eine einzige Gewebsart eingeschrumpft“.

Das makroskopische Verhalten der Sarkome weicht in manchen Punkten von dem der Carcinome ab. Sie sind von erheblich derberer fleischähnlicher Konsistenz und besser gegen die Umgebung abgesetzt als die mehr infiltrativ wachsenden Krebse. Ihre Wachstumsenergie ist eine recht erhebliche, so dass bereits 14 Tage nach der Impfung kirschgrosse Tumoren beobachtet werden. In ihrer Neigung zur Degeneration und Ulceration der Haut unterscheiden sie sich nicht wesentlich von den Carcinomen.

Die geschilderte Spindelzellsarkomentwickelung ist umso auffallender als spontan entstandene Geschwülste dieser Art, so weit uns bekannt, bei Mäusen bisher nie gesehen worden sind. Andererseits scheint es, als ob die mitgeteilte Beobachtung nicht ganz vereinzelt bleiben dürfte, da bei einer anderen unserer

Serien nach sehr lange fortgesetzer Züchtung ebenfalls bereits Anzeichen für die gleiche Umwandlung vorhanden sind.

Wenn wir nach einer Erklärung des Vorganges suchen, so kann natürlich der direkte Uebergang der Krebs- in die Sarkomzelle ernsthaft nicht diskutiert werden. Fraglich bleibt es jedoch, ob sich nicht im Laufe der stetig fortgesetzten Impfungen der Chemismus der Carcinomzellen so ändert, dass Stoffe gebildet werden, die reizend auf die Bindegewebezellen einwirken und dieselben zu metaplastischer Wucherung veranlassen. Wie weit hierbei etwa mit hineingelangende Bakterien, die sich im Laufe der fortgesetzten Impfungen gar nicht sicher ausschalten lassen, eine Rolle spielen, bleibe dahin gestellt. Im allgemeinen wurden unsere Impfversuche durch pathogene Bakterien, die das Wachstum des Carcinoms beeinträchtigen oder schädigend auf das Tier einwirken könnten, nicht gestört. Damit ist aber durchaus nicht gesagt, dass die Tumoren als solche steril sind oder bleiben, nur handelt es sich offenbar um eine Art Symbiose relativ harmloser Parasiten.

Eine weitere Erklärungsmöglichkeit besteht darin, dass bei den fortgesetzten Transplantationen neben den Krebszellen auch Bindegewebe verpflanzt wird, das durch die zahlreichen Tierpassagen im fremden Organismus eine bis zur Geschwulstbildung sich steigernde Proliferationskraft erfährt.

Druck von L. Schumacher in Berlin N. 24.